

Laboratorul de farmacognozie (cond.: prof. dr. Eugen Constantinescu, doctor-docent) a I.M.F. București

## CONTRIBUȚII LA STUDIUL FARMACOGNOSTIC AL PLANTEI EUPHORBIA SALICIFOLIA HOST.

dr. E. Constantinescu, E. Samborschi

Una dintre problemele permanente de studiu ale disciplinei de farmacognozie este depistarea plantelor indigene cu eventuală acțiune citostatică.

În această problemă se încadrează și cercetările întreprinse referitoare la *Euphorbia salicifolia* Host (Laptele cucului, Alior), Fam. Euphorbiaceae, deoarece din literatura de specialitate studiată am constatat că unele Euphorbiaceae s-au dovedit active în tumorile experimentale de sarcom 37, carcinom mamar, sarcom 180, adenocarcinom mamar 755, leucemie 1210, crocker mouse carcinoma, Walker rat carcinoma (1—13).

Dintre toate speciile de *Euphorbia* din țară (58), atenția noastră a fost atrasă de *Euphorbia salicifolia* Host, deoarece nu este de loc studiată din punct de vedere histologic și fitochimic și în același timp este foarte răspândită (14, 15).

### *Partea experimentală*

Ca materie primă am folosit rădăcina, tulpina, frunzele, inflorescența și fructele de *Euphorbia salicifolia* Host, recoltate la liziera pădurii Cernica în anul 1969.\*

După uscarea acestora la o temperatură de 50° C și aducerea la un grad de mărunțire convenabil s-au efectuat cercetările preconizate în vederea realizării scopului propus.

*Studiul histologic* s-a efectuat pe secțiuni transversale practicate în rădăcină, tulpină și frunză, clarificate și colorate prin metode clasice (16—20).

Rădăcina se caracterizează printr-o structură secundară în care lemnul și parenchimul cortical sînt foarte mult dezvoltate în contrast cu liberul. În partea internă a parenchimului cortical sînt dispuse circulare fibre pericicllice, grupate de obicei cîte trei. La același nivel se observă și rare celule scleroase (fig. nr. 1).

Tulpina prezintă un contur sinuat, datorită prezenței numeroaselor striuri longitudinale. Țesutul conducător alcătuit din fascicule libero lemnoase prevăzute cu o calotă de fibre pericicllice este dispus la exterior pe o linie sinuoasă paralelă cu conturul secțiunii. În regiunea medulară a acesteia se găsește un parenchim aerifer dezvoltat (fig. nr. 2).

Frunza prevăzută cu o structură heterogen-asimetrică prezintă un fascicol bicolateral și peritectori verucoși cu nodozități (fig. nr. 3a).

Caracterul general al familiei, laticiferele, în cazul acestei specii sînt mici și însoțesc vasele de lemn (fig. nr. 3b).

\* Mulțumiri tov. dr. S. Forstner pentru determinarea materialului recoltat

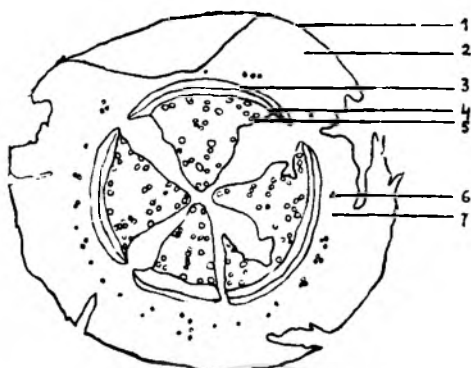


Fig. nr. 1: 1 = suber, 2 = parenchim cortical, 3 = liber,  
 4 = parenchim lemnos sclerificat, 5 = lemn, 6 = fibre  
 periclice, 7 = celule scleroase

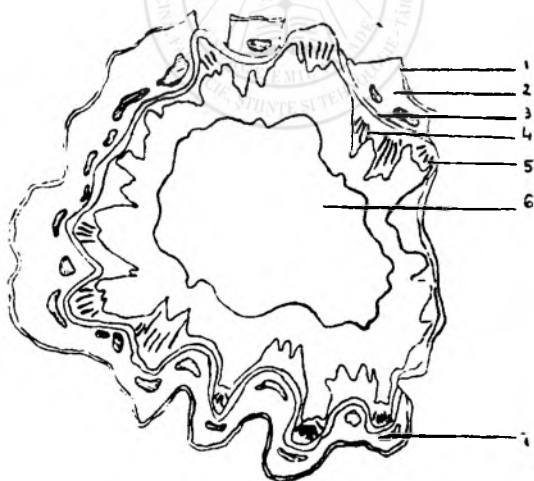


Fig. nr. 2: 1 = epidermă, 2 = parenchim cortical, 3 = liber,  
 4 = lemn, 5 = parenchim lemnos, 6 = parenchim aerifer,  
 7 = pachete de fibre periclice

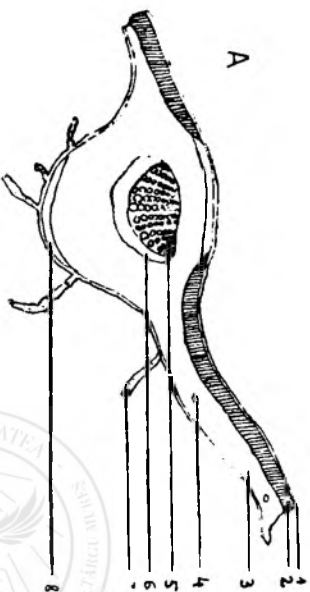


Fig. nr. 3a: 1 = epidermă, 2 = țesut palisadic, 3 = țesut lacunar, 4 - fasciccol libero-lemnos, 5 = lumn, 6 = liber, 7 = peri lectori, 8 - colenchim

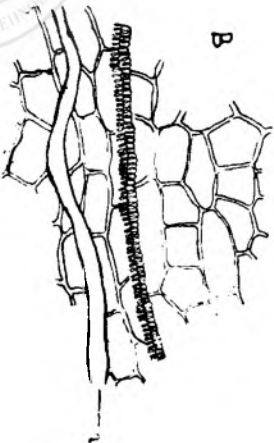


Fig. nr. 3b: 1 = tub laticifer

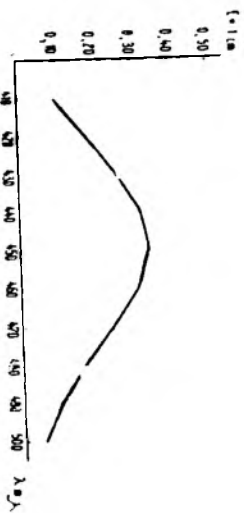


Fig. nr. 4: Curba de absorbție a

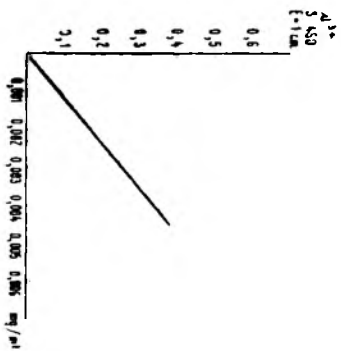


Fig. nr. 5: Curba elalon de extincție

Studiul chimic calitativ efectuat după o metodă puțin modificată, elaborată inițial de un colectiv al disciplinei de farmacognozie, ne-a condus la identificarea principiilor active ce se găsesc în tabelul nr. 1 (21).

Tabelul nr. 1

Organul studiat	Principii active			Reacții efectuate
	Soluție eterică	Soluție alcoolică	Soluție apoasă	
Rădăcina	carotenoide derivați cumarinici fitosteroli	derivați cumarinici  taninuri oze reduc. antocianozide	derivați cumarinici  taninuri oze reduc.  amidon	Carr-Price Feigl-Frehden Liebermann- Bourchardat Fe Cl <sub>3</sub> Fehling Lugol
Tulpina	carotenoide fitosteroli	flavonozide taninuri oze reduc.	taninuri oze reduc.	Carr-Price Liebermann- Bourchardat Shibata, Tauböck Fe Cl <sub>3</sub> Fehling
Frunza	carotenoide fitosteroli	flavonozide derivați cumarinici taninuri oze reduc.	flavonozide derivați cumarinici taninuri oze reduc.	Carr-Price Liebermann- Bourchardat Shibata  Feigl-Frehden Fe Cl <sub>3</sub> Fehling
Inflorescența	carotenoide fitosteroli	flavonozide taninuri	flavonozide taninuri	Carr-Price Liebermann- Bourchardat Shibata Fe Cl <sub>3</sub>
Fructul	fitosteroli	flavonozide oze reduc.	oze reduc. mat. pectice taninuri	Liebermann- Bourchardat Shibata Fehling Alcool Fe Cl <sub>3</sub>

#### Determinarea cantitativă a flavonelor

Deoarece, studiul plantei *Euphorbia salicifolia* Host a fost inițiat în vederea stabilirii constituenților cu eventuală activitate citostatică, în această lucrare ne propunem să insistăm asupra derivaților flavonici pentru că aceștia sînt menționați și pentru activitatea lor antineoplazică (12, 22—24).

În vederea stabilirii organului cu un conținut mai bogat în flavone, am efectuat dozarea acestora în stare liberă sau heterozidică prin metoda colorimetrică preconizată de D. Gr. Constantinescu, bazată pe proprietatea oxiflavonelor de a forma cu ioni de Al<sup>3+</sup> combinații chelate colorate intens în galben (25, 26).

Am adaptat această metodă la spectrofotometrul Specol (cuve de 1 cm grosime) pentru stabilirea curbei de absorbție în vizibil a complexului colorat și determinarea curbei etalon de extincție pentru complexul quercetol — AlCl<sub>3</sub>.

Intr-un balon cotat de 25 ml am adus 2 ml sol. metanolică de quercetol 0,01%, 5 ml de sol. apoasă de acetat de sodiu 10%, 3 ml sol. apoasă de clorură de aluminiu 2,5%, completând la semn cu metanol. Proba a fost lăsată în repaus 45 de minute. Proba martor s-a preparat cu aceeași cantitate de soluție metanolică de quercetol și 5 ml acetat de sodiu, completându-se la la semn cu alcool metilic.

Curba de absorbție a complexului quercetol — AlCl<sub>3</sub> este redată în fig. nr. 4. Din aceste date rezultă că extincția maximă se află la lungimea de undă  $\lambda = 450 \text{ m}\mu$ .

Stabilirea curbei etalon de extincție a complexului quercetol — AlCl<sub>3</sub>.

În patru baloane cotate de 25 ml se pipetează cîte 0,25; 0,50; 0,75; și 1 ml din soluția metanolică de quercetol 0,01%. Se adaugă cîte 5 ml soluție apoasă de acetat de sodiu 10% și apoi 3 ml soluție apoasă de clorură de aluminiu 2,5% și se completează la semn cu metanol. Se agită și se lasă în repaus 45 de minute.

Probele martor se prepară cu aceeași cantități de soluție metanolică de quercetol, cîte 5 ml acetat de sodiu și se completează cu alcool metilic pînă la 25 ml. Extincțiile au fost citite la spectrofotometru Specol în cuve de 1 cm grosime și la lungime de undă  $\lambda = 450 \text{ m}\mu$ . Curba etalon obținută este redată în fig. nr. 5.

Urmărind alți flavonele libere cit și cele heterozidice din inflorescențele, frunzele și tulpinile de Euphorbia salicifolia Host am procedat după cum urmează:

Din fiecare organ luat în studiu s-au cîntărit 0,50 g care au fost introduse cantitativ într-un cartuș Soxhlet și au fost epiuizate cu cloroform.

După epiuizarea cu cloroform și uscarea lor, probele au fost extrase cu metanol la reflux de două ori cu cîte 25 și respectiv 21 ml. Soluțiile au fost aduse cantitativ într-un balon cotat de 50 ml și s-a completat la semn cu metanol. Soluția aceasta a fost împărțită în două:

- 25 ml au fost folosiți pentru dozarea agliconilor liberi;
- 25 ml au fost folosiți pentru dozarea agliconilor totali.

**Dozarea agliconilor liberi.** Din cei 25 ml de soluție extractivă s-au pipetat 3 ml într-un balon cotat de 25 ml. S-au mai adăugat 5 ml soluție apoasă acetat de sodiu 10%, 3 ml soluție apoasă de clorură de aluminiu 2,5% și s-a adus la semn cu metanol. S-a lăsat în repaus 45 minute.

Probele martor s-au preparat cu volumul respectiv de soluție extractivă, 5 ml soluție acetat de sodiu și s-au completat pînă la semn cu metanol. Extincțiile au fost citite la spectrofotometrul Specol în cuve de 1 cm grosime și la lungimea de undă  $\lambda = 450 \text{ m}\mu$ .

**Determinarea agliconilor totali.** Ceilalți 25 ml soluție extractivă au fost supuși unei hidrolize cu 0,25 ml HCl 1 n în timp de 4 ore la reflux, după care soluția a fost adusă cantitativ într-un balon cotat de 50 ml. După neutralizare cu soluție metanolică saturată de carbonat de sodiu s-a completat la semn cu metanol. Din această soluție s-au luat cîte 3 ml și s-a lucrat identic ca în cazul agliconilor liberi.

Prin interpolarea în curba etalon a extincțiilor citite și raportarea %, am obținut rezultatele redade în tabelul nr. 2.

Tabelul nr. 2

Produs vegetal	Agliconi liberi g %	Agliconi totali g %	Agliconi legați heterozidic g %
Inflorescența	0,22	1,10	0,88
Frunza	0,05	0,15	0,10
Tulpina	0,01	0,03	0,02

## Concluzii

Studiul farmacognostic al plantei *Euphorbia salicifolia* Host, întreprins în vederea stabilirii constituenților cu eventuală acțiune antineoplazică a condus la:

- stabilirea caracterelor histologice ale rădăcinii, tulpinei și frunzei;
- identificarea fitosterolilor, carotenoidelor, flavonelor, cumarinelor, taninurilor, ozelor reducătoare;
- determinarea totalului de flavone (inflorescențe 1,10 g %, frunze 0,15 g %, tulpină 0,02 g %), precum și la determinarea acestora sub formă liberă (inflorescența 0,22 g %, fructe 0,05 %, tulpini 0,01 g %).

Constituenții chimici decelați în *Euphorbia salicifolia* Host creează baza unor cercetări viitoare privind stabilirea acțiunii citostatice.

Sosit la redacție: 10 ianuarie 1972.

## Bibliografie

1. FARNSWORTH N. R.: J. Pharm. Sci. (1966), 55, 3, 225; 2. BELKIN M., FITZGERALD D. B.: J. Natl. Cancer Inst. (1952), 13, 139; 3. TAYLOR A., McKENNA G. F., BURLAGE H. M.: Tex. Rept. Biol. Med. (1952), 10, 1062; 4. McKENNA G. F., TAYLOR A., GIBSON B. S.: Tex. Rept. Biol. Med. (1959), 17, 123; 5. McKENNA G. F., TAYLOR A., GIBSON B. S.: Tex. Rept. Biol. Med. (1960), 18, 233; 6. LEITER J., BOURKE CL., SCHEPARTZ I. A., ABBOLT B. J., FITZGERALD D. B.: Canc. Res. (1960), 20, 734; 7. LEITER J., BOURKE A., ABBOLT B. J., FITZGERALD D. B.: Canc. Res. (1961), 21, 93; 8. HARDINGE M. G., COURVILLE D. A., HARDINGE M., FUJIKOVA B.: Canc. Res. (1961), 21, pt. 2, 573; 9. SOKOLOFF M. D., SAELHOF C. M. D., McCONNEL B. M. D., EUCHITANI-GUCHI P. H. D., KOJI FUNACKA P. H. D.: Growth (1962), 26, 77; 10. HARDINGE M. G., COURVILLE D. A., HARDINGE M.: Canc. Res. (1963), 23, pt. 2, 981; 11. HARDINGE M. G., COURVILLE D. A., HARDINGE M., FUJIKAWA B., HARVEY R.: Canc. Res. (Suppl.), (1964), 24, 1; 12. FARNSWORTH N. R., HENRY L. K., SVOBODA G. H.: Lloydia (1966), 29, 101; 13. HECKER E.: Planta Medica (Suppl.) (1968), 24; 14. \* \* \*: Flora R.P.R., Ed. Academiei R.P.R., București, 1953, vol. II, 295; 15. SOO R.: Synopsis systematico-geobotanica florum, vegetationisque Hungarie, II, Akadémiai Kiadó, Budapest, 1966, 591; 16. STEINMETZ E.: Bull. Soc. Botanique de France (1934), LXXXI, 296; 17. CIONGA E., CONSTANTINESCU E.: Identificarea pulberilor vegetale farmaceutice, Ed. Furnica, București, 194, 1, 10; 18. GAMMERMAN A. F.: Manual de Farmacognozie, Ed. de Stat pentru literatură șt., București, 1952, 376; 19. GRIGORESCU EM., GAFENCU M., LAZĂR M.: Indreptar pentru lucrări practice de farmacognozie, Litografie, I.M.F. Iași, 1965, 21; 20. \* \* \*: Analiza farmacognostică a unor produse vegetale uzuale, Litografie, I.M.F. București, 1970; 21. CONSTANTINESCU E., CIULEI I., SOMMER L., GRIGORESCU E.: Farmacia (1964), 12, 385; 22. BALIŢKI K. P., VORONŢOVA A. M., KARPUGHINA A. M.: Lekarstvenie rastenia terapii Zlohacestvennie opuholei, Ed. Zdarovia, Kiev, 1966, 160; 23. FARNSWORTH N. R.: Pharmazeutische Zeitung (1968), 113, 1293; 24. \* \* \*: Science et Vie (1967), ian. 116; 25. CONSTANTINESCU GR. D., PLATON F., APREOTESEI C.: Farmacia (1961), 6, 333; 26. CONSTANTINESCU GR. D., OŢEANU R.: Acta Pol. Pharm. (1957), 5, 27.